

福建省烟粉虱自然种群 *Wolbachia* 感染特点

林煌真, 李正西*

(中国农业大学昆虫学系, 北京 100094)

摘要: *Wolbachia* 是专性的细胞内细菌, 广泛存在于节肢动物生殖组织。已有的研究表明, 节肢动物中存在 A 组和 B 组 *Wolbachia*, 而烟粉虱 *Bemisia tabaci* 中主要检测到了 B 组 *Wolbachia*。本研究从福建省采集到 17 个不同烟粉虱地理种群, 首先通过 rDNA-ITS1 克隆测序鉴定了不同烟粉虱地理种群的生物型, 然后采用 *Wolbachia* 16S rDNA 的特异引物, 并通过 PCR-RFLP 技术分析了不同烟粉虱地理种群中 *Wolbachia* 的感染特点。结果表明: 从福建省闽侯、平潭、南平、来舟、漳平和沙县采集到的烟粉虱自然种群属于非 B 型, 而非 B 型烟粉虱种群中存在广泛的超感染现象, 即单个非 B 型烟粉虱个体中同时感染了不同型 *Wolbachia*。相反, B 型烟粉虱自然种群的个体中只感染 A 组 *Wolbachia*。该研究依据密集采样的数据进一步证实了 *Wolbachia* 在烟粉虱自然种群中的分布确实与宿主的生物型密切相关, 提示 *Wolbachia* 可能在烟粉虱的种群分化中发挥作用。

关键词: 烟粉虱; 种群分化; *Wolbachia*; 超感染; rDNA; PCR-RFLP

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2008)01-0014-06

Characteristics of *Wolbachia* infection in natural populations of *Bemisia tabaci* in Fujian province

LIN Huang-Zhen, LI Zheng-Xi* (Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: *Wolbachia* are obligate intracellular symbionts that infect reproductive tissues of a wide range of arthropod species. Previous reports showed that arthropods carried *Wolbachia* belonging to supergroup A and B, but *Bemisia tabaci* mainly harbored *Wolbachia* of supergroup B. In this study, 17 natural populations of *B. tabaci* collected from Fujian province were firstly molecularly identified based on rDNA-ITS1 sequences, and then specific primers of *Wolbachia* 16S rDNA were used to amplify a target region through polymerase chain reaction, which was used for restriction fragment length polymorphism analysis. The results demonstrated that whitefly populations from areas including Minghou, Pintan, Nanping, Laizhou, Zhangping and Shaxian of Fujian province belonged to non-B biotypes, while the other populations belonged to B biotype. *Wolbachia* superinfection was commonly detected in non-B biotypes of *B. tabaci* based on PCR-RFLP analysis, while in B biotype of *B. tabaci* only supergroup A *Wolbachia* infection was found. These data, based on dense sampling, further verified that *Wolbachia* infection was closely related to the biotypes of *B. tabaci*, suggesting that *Wolbachia* might play a role in population differentiation of *B. tabaci*.

Key words: *Bemisia tabaci*; population differentiation; *Wolbachia*; superinfection; ribosomal DNA; PCR-RFLP

Wolbachia 是专性的细胞内细菌, 首次发现于 *Culex pipiens* 的生殖组织里, 后在节肢动物生殖组织(卵巢和精巢)中被广泛检测到(Hertig, 1936; Hertig and Wolbach, 1924)。 *Wolbachia* 具有母系遗传的特

点, 并通过多种方式改变宿主的生殖行为, 包括胞质不亲和(CI)、诱导孤雌生殖(PI)、遗传雄性雌性化以及杀雄作用等(Werren, 1997)。 *Wolbachia* 属于变形菌纲(Proteobacteria)的 α 亚门, 以 16S rDNA 和 *ftsZ* 基

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2006CB102006); 国家自然科学基金项目(30571218)

作者简介: 林煌真, 女, 1982 年生, 福建人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生态学与分子进化

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 86-10-62732539; Fax: 86-10-62733608; E-mail: zxli@cau.edu.cn

收稿日期 Received: 2007-06-20; 接受日期 Accepted: 2007-11-27

因进行系统发育分析可将 *Wolbachia* 分为 6 个组群, 其中 A 和 B 只存在于节肢动物体内(Werren *et al.* , 1995 ; Lo *et al.* , 2002)。由于 *wsp* 比 16S rDNA 和 *ftsZ* 基因变异速率快, 因此基于 *wsp* 基因的 *Wolbachia* 分组已超过 20 个亚组(Zhou *et al.* , 1998 ; Van Meer *et al.* , 1998 ; Jeyaprakash and Hoy , 2000)。

Wolbachia 在节肢动物中广泛分布, 据估计约有 20% ~ 75% 的节肢动物感染了 *Wolbachia* (Werren and Windsor , 2000 ; Kyei-poku , 2005)。 *Wolbachia* 在烟粉虱 *Bemisia tabaci* 中也有分布。烟粉虱 *B. tabaci* 属于同翅目粉虱科、粉虱亚科、小粉虱属, 是一种世界性害虫, 尤其是热带和亚热带地区的主要害虫之一。烟粉虱寄主范围广, 可分为 B 型和非 B 型, 其中 B 型烟粉虱能引起银叶反应(Costa and Brown , 1991 ; Brown *et al.* , 1995)。我国于 1949 年已有烟粉虱的记载(周尧 , 1949) , 但由于烟粉虱一直以来不是我国的主要害虫, 因此直到近年来由于烟粉虱的大发生才引起我国昆虫学和植保工作者的重视。烟粉虱体型小、分化速度快, 是由多种生物型组成的复合种。根据分子系统学分析证据, 目前我国至少存在 5 种不同生物型的烟粉虱(Li , 2006)。 Nirgianaki 等(2003)报道烟粉虱 *Wolbachia* 的感染率约为 35% , 而 Zehori-Fein 和 Brown(2002)在烟粉虱中检测到了 33% *Wolbachia* 感染率。 Nirgianaki 等(2003)发现烟粉虱个体中存在着单双超感染, 但感染的 *Wolbachia* 都属于 B 组 *Wolbachia*。褚栋等研究发现非 B 型烟粉虱感染的 *Wolbachia* 都属于 B 组 *Wolbachia* , 而 B 型没有检测到 *Wolbachia* (褚栋等 , 2005 ; 阮永明和刘树生 , 2005)。然而, Li 等(2007)在 B 型和非 B 型烟粉虱中都检测到了 *Wolbachia* , 并且发现 *Wolbachia* 的感染很可能与烟粉虱的生物型具有一定的关联性, 但需要更多的非 B 型烟粉虱样本和密集采样以获得更为可靠的结论。

福建省地处东南沿海(北纬 23°31' ~ 28°18'、东经 115°50' ~ 120°40') , 靠近北回归线, 属于典型的亚热带气候, 年平均温度 17℃ ~ 21℃ , 适合烟粉虱的生长发育。烟粉虱在福建省的发生近年总体呈上升趋势, 局部地区发生严重(何玉仙等 , 2003)。因此, 该地区的烟粉虱应该具有丰富的多样性, 可为研究 *Wolbachia* 的感染与烟粉虱生物型之间的关系提供有价值的素材。该研究从福建省采集到 17 个有代表性的烟粉虱地理种群, 通过密集采样并利用 ITS1 rDNA 序列鉴定了不同种群的生物型, 然后使用 *Wolbachia* 16S rDNA 专用引物并采用 PCR-RFLP 技

术研究了各个不同烟粉虱种群中 *Wolbachia* 的感染特点。

1 材料和方法

1.1 烟粉虱种群

于 2006 年夏季从福建省 17 个县市(闽侯、平潭、南平、来舟、漳平、沙县、龙岩、永安、云霄、东山、平和、诏安、漳浦、惠安、厦门、晋江和泉州)采集到 17 个不同烟粉虱种群(表 1)。采集新鲜烟粉虱成虫置无水乙醇, 浸泡于离心管中, 于 -20℃ 保存备用。

1.2 烟粉虱个体总 DNA 的提取

将单头烟粉虱样品置 0.2 mL 离心管, 加入 20 μ L 抽提液(10 mmol/L Tris-HCl , pH 8.4 , 50 mmol/L KCl , 0.45% Tween-20 , 0.45% NP-40 和 100 μ g/mL proteinase K) , 用微型研杵将样品磨碎, 置 65℃ 水浴 30 min , 然后于 98℃ 处理 10 min , 即获得用于 PCR 扩增的 DNA 模板。

1.3 烟粉虱 rDNA-ITS1 PCR 扩增及克隆测序

基本方法参照文献(Li , 2006)。烟粉虱 ITS1 PCR 扩增的引物为: 正向引物 TW81F : 5'-GTTTCCGTAGGTGAACCTGC-3' ; 反向引物 Bt5.8r : 5'-ATCCGCGAGCCGAGTGATCC-3' (De Barro *et al.* , 2000)。PCR 反应总体积 25 μ L , 包括: 2.5 μ L 10 \times PCR Buffer , 0.3 μ L *Taq* 酶(天根生化科技公司) , 2.5 U/ μ L 2.5 μ L MgCl₂ (25 mmol/L) , 2.0 μ L dNTPs (2.5 mmol/L each) , 正反向引物各 0.5 μ L (25 μ mol/L) , DNA 模板 2.0 μ L , 14.7 μ L ddH₂O。PCR 热循环程序为: 95℃ 5 min , 94℃ 1 min , 57℃ 1 min 15 s , 72℃ 1 min 30 s , 共 35 个循环, 最后于 72℃ 反应 10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖(1 \times TAE)电泳检测, 回收 DNA 并克隆测序。每一种群各随机选取 3 头成虫测序。

1.4 烟粉虱内共生菌 *Wolbachia* 16S rDNA PCR 扩增

基本方法参照文献(Li *et al.* , 2007)。用于扩增 *Wolbachia* 16S rDNA 引物为: 正向引物 16S315f : 5'-GCATGAGTGAAGAAGGCC-3' ; 反向引物 16S628r : 5'-AGATAGACGCCTTCGCCA-3'。PCR 反应总体积为 25 μ L , 包括 2.5 μ L 10 \times PCR Buffer , 0.25 μ L *Taq* 酶(2.5 U/ μ L , 天根生化科技公司) , 2.5 μ L MgCl₂ (25 mmol/L) , 2.5 μ L dNTPs (2.5 mmol/L each) , 正反向引物各 0.5 μ L (25 μ mol/L) , DNA 模板 1.5 μ L , 14.75 μ L ddH₂O。PCR 热循环程序: 95℃ 3 min , 94℃ 35 s , 55℃ 30 s , 72℃ 30 s , 共 40 个循环, 最后于 72℃ 反应

表 1 烟粉虱种群 ITS1 序列及其 *Wolbachia* 感染情况

Table 1 Whitefly populations , ITS1 sequences and *Wolbachia* infection types

种群编号 Population code	采集地点 Location	寄主植物 Host plant	检测烟粉虱头数 Number of whiteflies tested	ITS1 序列 GenBank 登录号 GenBank accession no. of ITS1 sequence	<i>Wolbachia</i> 分型 Type (16S)*
Gmax_MHMD	闽侯 Minghou	毛豆 <i>Glycine max</i>	7	EF547522	A (5) B (2)
lbat_PTDC	平潭 Pingtan	地瓜 <i>Ipomoea batatas</i>	14	EF547530	A (12) A + B (1) B (1)
Gmax_NPMD	南平 Nanping	毛豆 <i>Glycine max</i>	13	EF547534	A (7) A + B (3) B (3)
Gmax_LZMD	来舟 Laizhou	毛豆 <i>Glycine max</i>	8	EF547529	A (1) A + B (4) B (3)
Lcyl_ZPSG	漳平 Zhangping	丝瓜 <i>Luffa cylindrica</i>	5	EF547528	A (3) A + B (1) B (1)
Gmax_SXMD	沙县 Shaxian	毛豆 <i>Glycine max</i>	10	EF547532	A (4) A + B (1) B (5)
Cmos_LYNG	龙岩 Longyan	南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	15	EF547516	A (15)
Cmos_YANG	永安 Yong 'an	南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	9	EF547536	A (8)
Lcyl_YXSG	云霄 Yunxiao	丝瓜 <i>Luffa cylindrica</i>	11	EF547533	A (11)
Cmos_DSNG	东山 Dongshan	南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	7	EF547535	A (7)
Cmel_PHTG	平和 Pinghe	甜瓜 <i>Cucumis melo</i>	9	EF547525	A (9)
Csat_ZAHG	诏安 Zhao 'an	黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	7	EF547527	A (7)
Cmos_ZPNG	漳浦 Zhangpu	南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	6	EF547529	A (6)
Cmos_HANG	惠安 Hui 'an	南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	7	EF547523	A (7)
Cmos_XMNG	厦门 Xiamen	南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	10	EF547538	A (10)
Cmos_JJNG	晋江 Jinjiang	南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	6	EF547526	A (6)
Cmos_QZNG	泉州 Quanzhou	南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	9	EF547537	A (9)

* 括号里的数字表示基于 16S 分子检测的阳性头数。Numbers in parentheses indicate positives.

10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖(1 × TAE)电泳检测。各种群检测头数见表 1。

1.5 *Wolbachia* 16S rDNA 酶切分析及 PAGE 分型

PCR 产物经琼脂糖电泳检测后 ,进行限制性内切酶分析。酶切反应体系为 10 μL ,包括 1 μL 10 × Buffer(Tango™) 4 μL PCR 产物 0.25 μL *Nhe* I 0.25 μL *Vsp* I 4.5 μL ddH₂O ,37℃ 温育过夜。酶切产物用 8% 变性 尿素 聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分型(Sambrook *et al.* ,1989)。

1.6 分子系统发育分析

用于系统发育分析的烟粉虱 ITS1 序列来自本研究自测序列(表 1)与从 GenBank 数据库下载之序列(表 2)。将序列数据进行多重比对(ClustalW ,MAGA v.3.1)(Kumar *et al.* , 2001) ,采用 Kimura 2-paramter 距离模型 ,以烟粉虱近缘种 *Lipaleyrodes atriplex*(GenBank accession no. AF213988)为外群 ,构建邻接法(NJ) 最小进化法(ME)和最大简约法(MP)系统进化树(进化树各分支的置信度基于

Bootstrap 1 000 次重复检验)。

2 结果与分析

2.1 烟粉虱 ITS1 序列及其分子系统发育关系

通过 PCR 扩增及克隆测序共获得 17 条代表性 ITS1 序列(表 1) ,分别代表 17 个烟粉虱地理种群。每一种群各随机选取 3 头成虫测序 ,发现来自同一种群内不同个体的 ITS1 序列一致。将这些序列与从 GenBank 下载的参考序列(表 2)进行分子进化分析发现 :不同的建树方法获得的进化树相似 ,都能将 B 型聚为单独的一群(Bootstrap score = 84%)(图 1) ,而非 B 型烟粉虱组群包含了许多不同的生物型。从分子进化系统树可见 : Q 型与 B 型比邻 ,而前者又与 J 和 L 生物型接近 ,说明 B ,Q ,J 和 L 生物型在系统发育上近缘。从进化树上还可知 :采自福建的这 17 个烟粉虱种群似乎既无寄主植物特化型 ,也无地理区域相关性。

表 2 烟粉虱分子系统发育分析的参考序列

Table 2 Reference ITS1 sequences for phylogenetic analysis of <i>B. tabaci</i> .				
种群代码 Population code	来源地 Origin	寄主植物 Host plant	生物型 Biotype	ITS1 序列 GenBank 登录号 GenBank accession no. of ITS1 sequence
L. atriplex	Australia : Renmark	<i>Atriplex rhagodioides</i>	Outgroup	AF213988
USAA	USA	<i>Gossypium hirsutum</i>	A , New World	AF216066
AustraliaAN	Australia	<i>Emilia sonchifolia</i>	Australia	AF215986
AustraliaB	Australia	<i>Hibiscus rosa sinensis</i>	B	AF215991
CostaricaC	Costa Rica	<i>Lycopersicon esculentum</i>	C , New World	AF216012
IndiaH	South India	<i>Gossypium hirsutum</i>	H	AF216022
NigeriaJ	Nigeria	<i>Vigna unguiculata</i>	J	AF216042
PakistanK	Pakistan	<i>Gossypium hirsutum</i>	K	AF216046
SudanL	Sudan	<i>Gossypium hirsutum</i>	L	AF216055
TurkeyM	Turkey	<i>Gossypium hirsutum</i>	M , Asia Group	AF216062
NauruNA	Nauru	<i>Cleome viscosa</i>	NA	AF216035
ColombiaR	Colombia	<i>Lycopersicon esculentum</i>	R , New World	AF216011
BeninE	Benin	<i>Asystasia gangetica</i>	E	AF215997
SpainS	Spain	<i>Ipomoea</i> sp.	S , Sub-Saharan	AF216050
Ca60Bus	Kenya	<i>Manihot esculenta</i>	Sub-Saharan Africa	AJ315808
Iran5B	Iran	-	B	AF216026
IsraelPyRQ	Israel	<i>Rosa damascena</i>	Q	AY854059

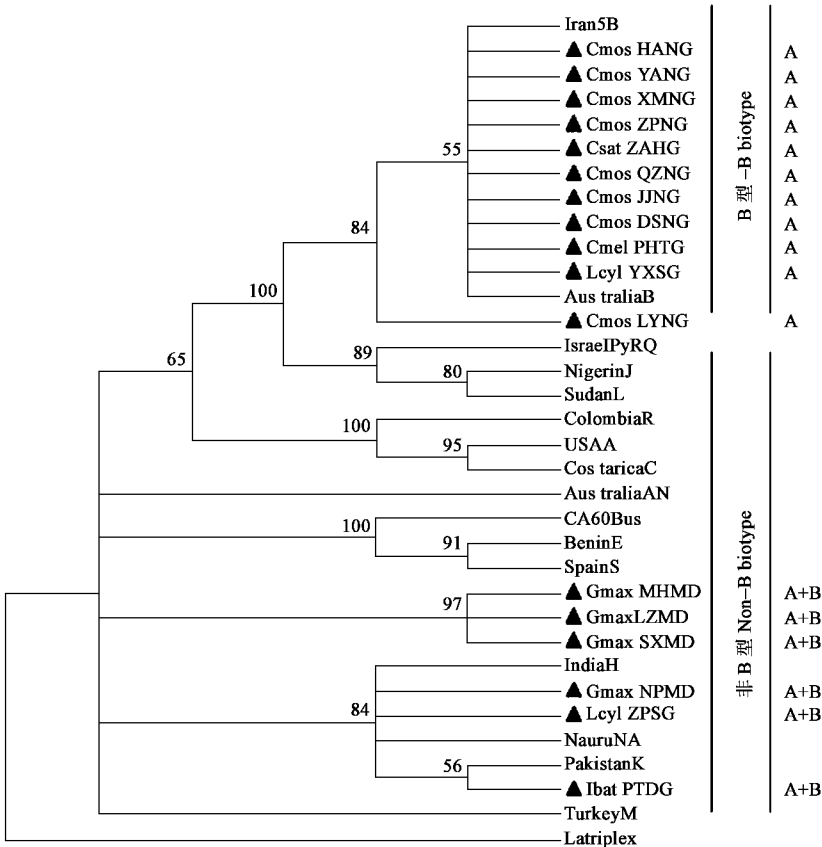


图 1 基于 ITS1 序列的烟粉虱系统进化树(NJ 树 ,Bootstrap 1 000 次重复)及其 *Wolbachia* 分型

Fig. 1 Phylogenetic tree of *B. tabaci* populations based on ITS1 sequences (NJ tree , Bootstrap = 1 000 replications) and *Wolbachia* infection types.

2.2 不同烟粉虱种群中 *Wolbachia* 的感染特点

烟粉虱内共生菌 *Wolbachia* 之 16S 的专用引物 16S 315f/16S 628r 经 PCR 产生所预期的 *Wolbachia* 特

异的 314 bp 的产物 ,该 PCR 产物被克隆测序所证实 (GenBank accession.no. DQ278885)。在多数情况下 , 上述引物还会同时产生非特异的 339 bp 的 PCR 产

物,经克隆测序证实该产物来自肠杆菌科(Enterobacteriaceae)的泛菌属 *Pantoea* (GenBank accession no. DQ278886)。但是,通过采用限制性内切酶 *Nhe* I 和 *Vsp* I 将 PCR 产物进行酶切分析,就可鉴别烟粉虱是否感染 *Wolbachia*,并且能区分所感染的 *Wolbachia* 组群,因为非特异的 339 bp 的 PCR 产物没有 *Nhe* I 和 *Vsp* I 酶切位点,而所有 *Wolbachia* 特异的 314 bp 产物都存在 *Nhe* I 酶切位点,又由于 *Vsp* I 只存在于 B 组 *Wolbachia* 中,因此可利用 *Nhe* I/*Vsp* I 双酶切鉴别 A 组和 B 组 *Wolbachia*。通过酶切分析和聚丙烯酰胺凝胶电泳分型(PAGE),结果显示:A 组 *Wolbachia* 产生 2 个条带(196/118),B 组 *Wolbachia* 产生 4 条带(118,94,56,46 bp),而 A+B 超感染可产生 5 个条带(196,118,94,56,46 bp)(图 2)。PCR-RFLP 分析结果还表明:*Wolbachia* 在烟粉虱种群中的感染与烟粉虱的生物型具有密切的相关性,即 B 型烟粉虱只感染 A 组 *Wolbachia*,而非 B 型烟粉虱种群中普遍存在 *Wolbachia* 超感染现象,即单个烟粉虱个体中同时感染了 A 组和 B 组的 *Wolbachia*(表 1,图 1)。

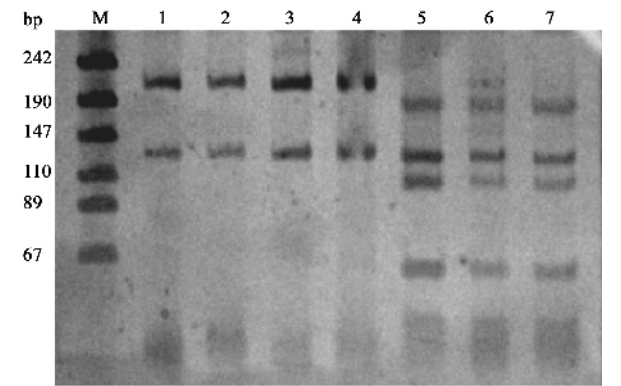


图 2 烟粉虱体内 *Wolbachia* 16S rDNA PCR-RFLP 分析图谱(8% PAGE)

Fig. 2 PCR-RFLP analysis of *Wolbachia* 16S rDNA (8% PAGE)

1: 平和 Pinghe; 2: 泉州 Quanzhou; 3: 龙岩 Longyan; 4: 东山 Dongshan; 5: 闽侯 Minghou; 6: 来舟 Laizhou; 7: 沙县 Shaxian.
1~4: A 型 *Wolbachia* A-*Wolbachia*; 5~7: A 型与 B 型 *Wolbachia* 超感染 Superinfection with A- and B-*Wolbachia*.

3 讨论

有关烟粉虱种群中感染 *Wolbachia* 的研究,尽管早有报道,但这些研究都只在非 B 型烟粉虱中检测到了 *Wolbachia* 的感染,并且所检测到的 *Wolbachia*

都属于 B 组(Zchori-Fein and Brown, 2002; Nirgianaki et al., 2003; 褚栋等, 2005; 阮永明和刘树生, 2005)。我们通过设计更为灵敏的分子检测引物,对采自我国的 14 个种群以及来自以色列的 4 个烟粉虱种群中 *Wolbachia* 的感染情况进行了检测,发现 B 型和非 B 型烟粉虱种群中都有 *Wolbachia* 的感染(Li et al., 2007)。然而,该研究所采用的样本覆盖面宽,而样本数相对较小,尤其是非 B 型烟粉虱种群更少。因此,我们进一步集中在具有丰富的烟粉虱多样性的一个区域(福建省)密集采样,突出区域性和代表性。研究结果显示所有被检测的 17 个烟粉虱自然种群中都存在 *Wolbachia* 感染,并进一步证实 B 型烟粉虱主要感染 A 组 *Wolbachia*,而非 B 型烟粉虱种群中普遍存在 *Wolbachia* 超感染,并且 *Wolbachia* 的感染与烟粉虱的生物型之间具有密切的关系。

Wolbachia 的感染率的高低除了与宿主的自然属性有关,还很可能与检测方法密切相关。例如, Jeyaparakash 和 Hoy(2000)采用 Long PCR 技术基于 *wsp* 基因在 63 种节肢动物中发现有 73% 感染了 *Wolbachia*,比预期的感染率要高得多。PCR-RFLP 分析技术在检测 *Wolbachia* 感染的研究中已被采用(Noda, 2001; James, 2002),但已有的报道中采用酶切的方法却难以检测单个个体中 *Wolbachia* 的超感染。另外,基于 *wsp* 的通用引物 81F/691R 在 *Wolbachia* 分子检测中灵敏度不高,而且存在一定的偏向(偏向于 B 组 *Wolbachia*)(另文发表)。本研究所采用的 *Wolbachia* 16S rDNA 专用引物,结合 PCR-RFLP 分析技术以及 PAGE 分型,能极其灵敏和方便地‘普查’*Wolbachia* 的感染情况。本研究的结果表明:采用 16S 315f/16S 628r 引物并配合限制性内切酶 *Nhe* I 和 *Vsp* I,不仅能灵敏地检测到 *Wolbachia* 的感染,而且能区分感染的是 A 组还是 B 组 *Wolbachia* 以及超感染,对于研究烟粉虱等昆虫与其内共生菌之间的相关作用关系提供了一种非常有效的研究工具。

Wolbachia 通过多种方式改变宿主的生殖行为,其中胞质不亲和(CI)是最通常的机制(Werren, 1997)。James 等(2002)发现果蝇 *Drosophila simulans* 存在着胞质不亲和现象,即双感染的雄虫和没有感染的或单感染的雌虫发生胞质不亲和,产生的后代不能孵化。同时还发现单感染的雄虫与不感染的雌虫或感染不同品系单感染的雌虫也产生胞质不亲和,而反过来双感染的雌虫与所有的雄虫都不存在胞质不亲和。还有研究表明不同生物型的烟粉虱也

存在不能交配的现象(Perring *et al.* ,1993 ;Bedford *et al.* ,1994 ;De Barro and Hart ,2000)。这些研究结果说明 *Wolbachia* 可以通过胞质不亲和机制导致种群分化甚至产生生殖隔离 ,从而促进新物种的形成。本研究揭示非 B 型烟粉虱普遍存在 *Wolbachia* 超感染 ,而 B 型烟粉虱主要是纯的 A 组 *Wolbachia* 单感染。考虑到烟粉虱是经历着快速分化的复合种群 ,而 B 型烟粉虱似乎是新近出现的更具入侵性的生物型 ,因此 *Wolbachia* 的感染可能与烟粉虱的生物特性密切相关。B 型烟粉虱种群中纯的 *Wolbachia* 单感染很可能通过降低胞质不亲和而促进了该型烟粉虱的繁盛 ,反之亦然。

参 考 文 献 (References)

- Bedford ID, Briddon RW, Brown JK, Rosell RC, Markham PG, 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of whitefly (*Bemisia tabaci*) biotypes from different geographic regions. *Ann. Appl. Biol.* , 125 : 311 – 325.
- Brown JK, Frohlich DR, Rosel RC, 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies : biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex ? *Ann. Rev. Entomol.* , 40 : 511 – 534.
- Chu D, Cong B, Zhang YJ, Xu BY, Wu QJ, Zhu GR, 2005. Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia* in different *Bemisia tabaci* biotype. *Acta Entomol. Sin.* , 48 : 518 – 525. [褚栋, 丛斌, 张友军, 徐宝云, 吴青君, 朱国仁, 2005. 不同生物型烟粉虱体内 *Wolbachia* 共生菌的检测及其系统树分析. 昆虫学报, 48 : 518 – 525]
- Costa HS, Brown JK, 1991. Variation in biological characteristics and esterase patterns among populations of *Bemisia tabaci* and the association of one population with silverleaf symptom induction. *Entomol. Expl. Appl.* , 61 : 211 – 219.
- De Barro PJ, Hart PJ, 2000. Mating interactions between two biotypes of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae) in Australia. *Bull. Entomol. Res.* , 90 : 103 – 112.
- De Barro PJ, Driver F, Trueman JH, Curran J, 2000. Phylogenetic relationships of world populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) using ribosomal ITS1. *Mol. Phyl. Evol.* , 16 : 29 – 36.
- He YX, Yang XJ, Wen GY, 2003. Investigations of host plants of *Bemisia tabaci* (Gennadius) in agricultural field. *Entomol. J. East China* , 12 : 16 – 20. [何玉仙, 杨秀娟, 翁启勇, 2003. 农田烟粉虱寄主植物调查初报. 华东昆虫学报, 12 : 16 – 20]
- Hertig M, 1936. The rickettsia, *Wolbachia pipentis* (gen. et sp. n.) and associated inclusions of the mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology* , 28 : 453 – 486.
- Hertig M, Wolbach SB, 1924. Studies on rickettsia-like microorganisms in insects. *Med. Res.* , 44 : 329 – 374.
- James AC, Dean MD, McMahon ME, Ballard JWO, 2002. Dynamics of double and single *Wolbachia* infections in *Drosophila simulans* from New Caledonia. *Heredity* , 88 : 182 – 189.
- Jeyaprakash A, Hoy MA, 2000. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplifications : *usp* sequences found in 76% of 63 arthropod species. *Insect Mol. Biol.* , 9 : 393 – 405.
- Kumar S, Tamura K, Jakobsen IB, Nei M, 2001. MEGA2 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software. Arizona : Arizona State University.
- Kyei-poku GK, 2005. On the ubiquity and phylogeny of *Wolbachia* in lice. *Mol. Ecol.* , 14 : 285 – 294.
- Li ZX, 2006. Molecular phylogenetic analysis reveals at least five genetic races of *Bemisia tabaci* in China. *Phytoparasitica* , 34 : 431 – 440.
- Li ZX, Lin HZ, Guo XP, 2007. Prevalence of *Wolbachia* infection in *Bemisia tabaci*. *Curr. Microbiol.* , 54 : 467 – 471.
- Lo N, Casiraghi M, Salati E, Bazzocchi C, Bandi C, 2002. How many *Wolbachia* supergroups exist ? *Mol. Biol. Evol.* , 19 : 341 – 346.
- Nirgianaki A, Banks GK, Frohlich DR, Veneti Z, Braig HR, Miller TA, Bedford ID, Markham PG, Savakis C, Bourtzis K, 2003. *Wolbachia* infections of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Curr. Microbiol.* , 47 : 93 – 101.
- Noda H, Koizumi Y, Zhang Q, Deng KJ, 2001. Infection density of *Wolbachia* and incompatibility level in two planthopper species, *Laodelphax striatellus* and *Sogatella furcifera*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* , 31 : 727 – 737.
- Perring TM, Cooper AD, Rodriguez RJ, Farrar CA, Bellows TS, 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioural studies. *Science* , 259 : 74 – 77.
- Ruan YM, Liu SS, 2005. Detection and phylogenetic analysis of prokaryotic endosymbionts in *Bemisia tabaci*. *Acta Entomol. Sin.* , 48 : 859 – 865. [阮永明, 刘树生, 2005. 浙江 B 型与非 B 型 (China-ZHJ-1) 烟粉虱种群共生细菌的检测及系统发育分析. 昆虫学报, 48 : 859 – 865]
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T, 1989. Molecular Cloning – A Laboratory Manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Van Meer MMM, Witteveldt J, Stouthamer R, 1999. Phylogeny of the arthropod endosymbiont *Wolbachia* based on the *usp* gene. *Insect Mol. Biol.* , 8 : 399 – 408.
- Werren JH, Zhang W, Guo LR, 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia* : reproductive parasites of arthropods. *Proc. R. Soc. Lond. B* , 261 : 55 – 63.
- Werren JH, 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annu. Rev. Entomol.* , 42 : 587 – 609.
- Werren JH, Windsor D, 2000. *Wolbachia* infection frequencies in insects : evidence of a global equilibrium ? *Proc. R. Soc. Lond. B* , 267 : 1 277 – 1 285.
- Zchori-Fein E, Brown JK, 2002. Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Genn.)(Hemiptera : Aleyrodidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* , 95 : 711 – 718.
- Zhou Y, 1949. A checklist of whitefly in China. *Chin. J. Entomol.* , 3 : 1 – 18. [周尧, 1949. 中国粉虱名录. 中国昆虫学, 3 : 1 – 18]
- Zhou WF, Rousset SL, O'Neill S, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *usp* gene sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B.* , 265 : 505 – 515.